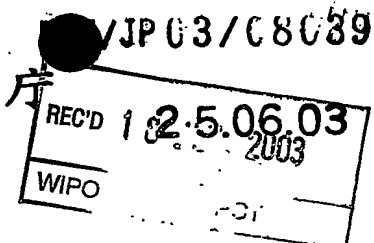


日本国特許
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 6月26日

出願番号

Application Number:

特願2002-185546

[ST.10/C]:

[JP2002-185546]

出願人

Applicant(s):

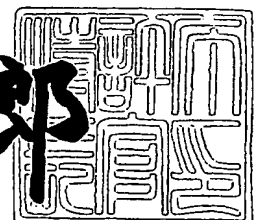
小野薬品工業株式会社

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月15日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特2003-3027719

【書類名】 特許願
 【整理番号】 ONP4219
 【提出日】 平成14年 6月26日
 【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿
 【国際特許分類】 A61K 31/00
 C07D471/04

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

【氏名】 中出 眞嗣

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

【氏名】 鈴木 秀博

【特許出願人】

【識別番号】 000185983

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

【氏名又は名称】 小野薬品工業株式会社

【代表者】 松本 公一郎

【代理人】

【識別番号】 100081086

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 大家 邦久

【電話番号】 03(3669)7714

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 043731

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9710265

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 血管の異常な収縮または拡張による疾患治療剤

【特許請求の範囲】

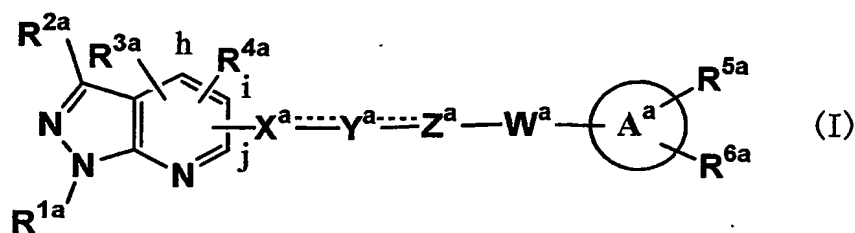
【請求項1】 EDG-5調節剤からなる血管の異常な収縮または拡張による疾患の治療および／または予防剤。

【請求項2】 血管の異常な収縮または拡張による疾患が、くも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患、高血圧、腎疾患および慢性頭痛から選ばれる疾患である請求項1に記載の疾患の治療および／または予防剤。

【請求項3】 EDG-5調節剤がEDG-5アンタゴニストである請求項1に記載の血管の異常な収縮による疾患の治療および／または予防剤。

【請求項4】 EDG-5アンタゴニストが一般式(I)

【化1】



(式中、R^{1a}は水素原子、C1～8アルキルまたは—COR^{7a}（基中、R^{7a}はC1～8アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアラルキル、C1～6アルコキシ、置換されていてもよいアリールオキシまたは置換されていてもよいアラルキルオキシを表わす。）を表わし、

R^{2a}はC1～8アルキルまたは置換されていてもよいアリールを表わし、

R^{3a}は水素原子、C1～8アルキル、C1～6アルコキシ、C2～6アルコキシカルボニル、ハロアルキル、C3～7シクロアルキルまたは置換されていてもよいアリールを表わし、

R^{4a}は水素原子またはC1～8アルキルを表わし、

R^{5a}およびR^{6a}は、それぞれ独立して水素原子、C1～8アルキル、C1～6アルコキシ、C2～6アルコキシカルボニル、カルボキシル、C2～6アルキニル、ハロゲン原子、シアノ、ニトロ、ハロアルキル、C1～8アルキルアミノ、

ジ (C1～8アルキル) アミノ、アシル、水酸基、置換されていてもよいアリールオキシ、置換されていてもよいアラルキルオキシ、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアラルキル、アルコシアルキルまたは $-\text{CONH} \text{R}^{8a}$ (基中、 R^{8a} は置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいアラルキルを表わす。) を表わし、

X^a は $-\text{N} (\text{R}^{9a}) -$ (基中、 R^{9a} は水素原子、C1～8アルキルまたは $-\text{NHR}^{10a}$ (基中、 R^{10a} はカルボキシルまたはC2～6アルコシカルボニルを表わす。) を表わす。)、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{}$ 、 $-\text{CH}=\text{}$ または $-\text{CH} (\text{R}^{11a}) -$ (基中、 R^{11a} は水素原子またはC1～8アルキルを表わす。) を表わし、

Y^a は $-\text{N} (\text{R}^{12a}) -$ (基中、 R^{12a} は水素原子、C1～8アルキル、置換されていてもよいアラルキル、C2～6アルコシカルボニル、置換されていてもよいアリールオキシカルボニル、置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニルまたは $-\text{CONHR}^{13a}$ (基中、 R^{13a} は置換されていてもよいアリールまたは、置換されていてもよいアラルキルを表わす。) を表わす。)、 $=\text{N}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $=\text{CH}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CO}-$ または単結合を表わし、

Z^a は $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CS}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-$ または単結合を表わし、
 W^a は $-\text{N} (\text{R}^{14a}) -$ (基中、 R^{14a} は水素原子、C1～8アルキル、置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル、置換されていてもよいアリールオキシカルボニルまたはヘテロアリールC1～8アルキルを表わす。)、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CONH}-$ (ただし、窒素原子は環 A^a と結合する。)、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NHCH}_2-$ (ただし、炭素原子は環 A^a と結合する。) または単結合を表わし、

【化2】

は、二重結合または単結合を表わし、

環 A^a は置換されていてもよいアリール、ヘテロアリールまたはC3～7シクロアルキルを表わす。) で示されるピラゾロピリジン化合物またはそれらの非毒性塩である請求項3に記載の血管の異常な収縮による疾患の治療および／または予防剤。

【請求項5】 血管の異常な収縮による疾患が、くも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患、高血圧、腎疾患である請求項3に記載の疾患の治療および／または予防剤。

【請求項6】 EDG-5調節剤がEDG-5アゴニストである請求項1に記載の血管の異常な拡張による疾患の治療および／または予防剤。

【請求項7】 血管の異常な拡張による疾患が、慢性頭痛である請求項6に記載の疾患の治療および／または予防剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、EDG (Endothelial differentiation gene) -5調節剤からなる血管の異常な収縮または拡張による疾患の治療および／または予防剤に関する。

【0002】

【発明の背景および従来技術】

スフィンゴシン-1-リン酸 ((2S, 3R, 4E) -2-アミノ-3-ヒドロキシオクタデカ-4-エニル-1-リン酸; S1P) は細胞内でのスフィンゴ脂質の代謝回転や、細胞外での分泌性スフィンゴシンキナーゼの作用で合成される脂質であり、細胞間および細胞内のメッセンジャーとして働くことが提唱されている。まず、S1Pの細胞内セカンドメッセンジャーとしての作用を示唆する実験結果が報告された [Science, 248, 1653 (1990)]。しかし、S1Pが直接作用する細胞内分子は未だ見出されていない。

【0003】

また、S1Pが細胞外より細胞表面の受容体を介して作用していることを示唆する報告がされ、細胞間メッセンジャーとしての役割も注目されている。最近、S1P受容体のクローニングが進み、Gタンパク質共役型受容体のEDG-1 (S1P₁)、EDG-3 (S1P₃)、EDG-5 (AGR16/H218/S1P₂)、EDG-6 (S1P₄) およびEDG-8 (S1P₅) が、特異的S1P受容体として報告された。

これらのS1P受容体はリゾホスファチジン酸 (LPA) 受容体であるEDG

ー2、4、7とも高い相同性を有していることが明らかになり、EDG-1～8はS1P/LPA受容体ファミリーを形成するとされている。

【0004】

S1Pの生物学的作用として、インビトロでは平滑筋細胞や癌細胞の運動抑制、血小板の凝集などが、またインビボでは血管新生作用、腎血流の減少作用、肺線維化の抑制作用などが知られている。また、S1Pがイヌ脳底動脈、腎動脈を収縮させることも報告されている[Stroke, 32, 2913 (2001) ; British J. Pharmacol., 130, 1871 (2000)]。しかし、このようなS1Pの作用が、受容体のどのサブタイプを介して引き起こされているのかは明らかにされていなかった。

【0005】

またEDG-5に関しては、そのmRNAの発現が心臓、肺、胃、小腸の組織で強く認めらるること、および心冠状動脈の動脈硬化モデルであるネズミ頸動脈のバルーン障害モデルにおいて、血管内膜細胞でのそのmRNAの発現量が、健常な血管内膜細胞に比べて有意に減少することが報告されている(特開平6-234797号)。EDG-5ノックアウトマウスにおいては、神経系に及ぼす作用[Eur. J. Neurosci. 14, 203 (2001)]、体長の短縮[J.Biol.Chem. 2002 published on May 2]等が報告されている。

【0006】

一方、W001/03739号明細書には、S1P受容体アゴニストまたはS1Pが種々の臓器の線維化を抑制する旨の記載がされている。また、W001/98301号明細書には、ピラゾロピリジン化合物がS1P受容体拮抗作用を有し、肝線維症、肺線維症、腎線維症および動脈硬化症の治療に有効である旨の記載がある。

【0007】

【発明の開示】

本発明者らは、S1Pの受容体の役割を解明すべく鋭意検討した結果、脳底動脈および腎動脈の収縮または拡張が、S1P受容体のうち特異的にEDG-5を介して引き起こされていることを見出した。さらに、本発明者らは大動脈の収縮または拡張においてもS1Pが関与すること、またその作用が特異的にEDG-5を介して引き起こされることも初めて見出した。さらに、本発明者等はEDG

－5の血圧に対する作用も明らかにした。

これらのことは従来技術から全く予期できないことであり、今回、本発明者等が初めて確認したことである。

従って、EDG－5を調節することによって、脳底動脈、腎動脈および大動脈におけるS1Pの収縮または拡張作用を調節することができる。

【0008】

すなわち、本発明はEDG－5調節剤からなる血管の異常な収縮または拡張による疾患の治療および／または予防剤に関する。さらに詳しく言えば、EDG－5アンタゴニストからなる血管の異常な収縮による疾患の治療および／または予防剤、およびEDG－5アゴニストによる血管の異常な拡張による疾患の治療および／または予防剤に関する。

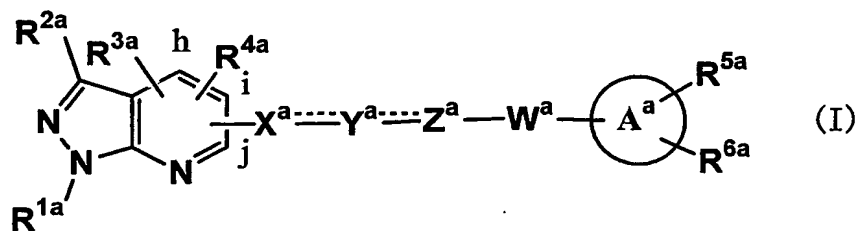
【0009】

本発明で使用するEDG－5アンタゴニストは、EDG－5に作用し、EDG－5を不活性化するものであれば何でも構わない。例えば、以下の化合物が好適に用いられる。

【0010】

(1) 一般式 (I)

【化3】



(式中、 R^{1a} は水素原子、C1～8アルキルまたは $-COR^{7a}$ (基中、 R^{7a} はC1～8アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアラルキル、C1～6アルコキシ、置換されていてもよいアリールオキシまたは置換されていてもよいアラルキルオキシを表わす。)を表わし、

R^{2a} はC1～8アルキルまたは置換されていてもよいアリールを表わし、

R^{3a} は水素原子、C1～8アルキル、C1～6アルコキシ、C2～6アルコキシカルボニル、ハロアルキル、C3～7シクロアルキルまたは置換されていても

よいアリールを表わし、

【0011】

R^{4a} は水素原子または C 1～8 アルキルを表わし、

R^{5a} および R^{6a} は、それぞれ独立して水素原子、C 1～8 アルキル、C 1～6 アルコキシ、C 2～6 アルコキシカルボニル、カルボキシル、C 2～6 アルキニル、ハロゲン原子、シアノ、ニトロ、ハロアルキル、C 1～8 アルキルアミノ、ジ (C 1～8 アルキル) アミノ、アシル、水酸基、置換されていてもよいアリールオキシ、置換されていてもよいアララルキルオキシ、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアララルキル、アルコキシアルキルまたは $-CONHR^{8a}$ (基中、 R^{8a} は置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいアララルキルを表わす。) を表わし、

【0012】

X^a は $-N(R^{9a})-$ (基中、 R^{9a} は水素原子、C 1～8 アルキルまたは $-NHR^{10a}$ (基中、 R^{10a} はカルボキシルまたは C 2～6 アルコキシカルボニルを表わす。) を表わす。)、 $-O-$ 、 $-N=$ 、 $-CH=$ または $-CH(R^{11a})-$ (基中、 R^{11a} は水素原子または C 1～8 アルキルを表わす。) を表わし、

Y^a は $-N(R^{12a})-$ (基中、 R^{12a} は水素原子、C 1～8 アルキル、置換されていてもよいアララルキル、C 2～6 アルコキシカルボニル、置換されていてもよいアリールオキシカルボニル、置換されていてもよいアララルキルオキシカルボニルまたは $-CONHR^{13a}$ (基中、 R^{13a} は置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいアララルキルを表わす。) を表わす。)、 $=N-$ 、 $-CH_2-$ 、 $=CH-$ 、 $-O-$ 、 $-CO-$ または単結合を表わし、

【0013】

Z^a は $-CO-$ 、 $-CS-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-O-$ または単結合を表わし、

W^a は $-N(R^{14a})-$ (基中、 R^{14a} は水素原子、C 1～8 アルキル、置換されていてもよいアララルキルオキシカルボニル、置換されていてもよいアリールオキシカルボニルまたはヘテロアリール C 1～8 アルキルを表わす。)、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CONH-$ (ただし、窒素原子は環 A^a と結合する。)、 $-CH_2-$ 、 $-NHCH_2-$ (ただし、炭素原子は環 A^a と結合する。) または単結合

を表わし、

【0014】

【化4】

は、二重結合または単結合を表わし、

環A^aは置換されていてもよいアリール、ヘテロアリールまたはC3～7シクロアルキルを表わす。)で示されるピラゾロピリジン化合物またはそれらの非毒性塩。

本発明で使用するEDG-5アゴニストは、EDG-5に作用し、EDG-5を活性化するものであれば何でも構わない。

【0015】

一般式(I)で示される化合物は、公知の方法で薬学的に許容される塩に変換される。非毒性塩は薬学的に許容され、水溶性のものが好ましい。

本発明化合物の非毒性塩としては、例えば、アルカリ金属（カリウム、ナトリウム、リチウム等）の塩、アルカリ土類金属（カルシウム、マグネシウム等）の塩、アンモニウム塩（テトラメチルアンモニウム塩、テトラブチルアンモニウム塩等）、有機アミン（トリエチルアミン、メチルアミン、ジメチルアミン、シクロペンチルアミン、ベンジルアミン、フェネチルアミン、ピペリジン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリス（ヒドロキシメチル）メチルアミン、リジン、アルギニン、N-メチル-D-グルカミン等）の塩、酸付加物塩（無機酸塩（塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩等）、有機酸塩（酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、安息香酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、イセチオン酸塩、グルクロン酸塩、グルコン酸塩等）等）が挙げられる。

【0016】

本発明化合物の非毒性塩には、溶媒和物、または上記本発明化合物のアルカリ（土類）金属塩、アンモニウム塩、有機アミン塩、酸付加物塩の溶媒和物も含まれる。

溶媒和物は非毒性かつ水溶性であることが好ましい。適当な溶媒和物としては、例えば水、アルコール系溶媒（エタノール等）等の溶媒和物が挙げられる。

【0017】

一般式（I）で示される化合物は、W001/98301号明細書に記載の方法により製造することができる。

一般式（I）で示される化合物の式中の各基の定義は、W001/98301号明細書に詳しく記載されている。

また、本発明において好ましく使用される化合物としては、前記明細書の実施例に記載されている化合物が挙げられる。中でも、N-（1H-1, 3, 4-トリメチルピラゾロ[3, 4-b]ピリジン-6-イル）アミノ-N'-（3-クロロフェニル）尿素が特に好ましい。

【0018】

本発明においては、特に指示しない限り異性体はこれをすべて包含する。例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルチオ、アルキレン、アルケニレン、アルキニレンには直鎖のものおよび分枝鎖のものが含まれる。さらに、二重結合、環、縮合環における異性体（E、Z、シス、トランス体）、不斉炭素の存在等による異性体（R、S体、 α 、 β 配置、エナンチオマー、ジアステレオマー）、旋光性を有する光学活性体（D、L、d、l体）、クロマトグラフ分離による極性体（高極性体、低極性体）、平衡化合物、回転異性体、これらの任意の割合の混合物、ラセミ混合物は、すべて本発明に含まれる。

【0019】

EDG-5調節剤は血管の異常な収縮または拡張による疾患の治療および／または予防剤として有用である。より詳しく言えば、EDG-5調節剤のうちEDG-5アンタゴニストは血管の異常な収縮による疾患、例えばくも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患、高血圧、腎疾患の治療および／または予防剤として、またEDG-5アゴニストは血管の異常な拡張による疾患、例えば慢性頭痛（例えば、偏頭痛、緊張型頭痛、それらの混合型頭痛または群発頭痛）の治療および／または予防剤として有用である。なお、高血圧には心不全、糖尿病または腎症など合併症を伴う高血圧症や、二次性高血圧症なども

含まれる。

【0020】

〔毒性〕

本発明に用いられる化合物の毒性は低いものであり、医薬として使用するために十分に安全であると判断できる。

【0021】

〔医薬品への適用〕

本発明で使用されるEDG-5調節剤は、EDG-5に特異的に結合しアンタゴニストまたはアゴニスト作用を示すため、S1PによりEDG-5を介して引き起こされる血管の異常な収縮または拡張による疾患の治療および／または予防に有用であると考えられる。特に、EDG-5アンタゴニストは血管の異常な収縮による疾患、例えば、くも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患、高血圧、腎疾患等の治療または予防に有用であり、EDG-5アゴニストは血管の異常な拡張による疾患、例えば慢性頭痛（例えば、偏頭痛、緊張型頭痛、それらの混合型頭痛または群発頭痛）の治療または予防に有用である。

【0022】

本発明に用いられるEDG-5調節剤を上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

さらに、本発明においては、EDG-5調節剤は、

- 1) その化合物の予防および／または治療効果の補完および／または増強、
- 2) その化合物の動態・吸収改善、投与量の低減、および／または
- 3) その化合物の副作用の軽減を目的として他の薬剤と組み合わせた併用剤として投与してもよい。

【0023】

EDG-5調節剤と他の薬剤の併用剤は、1つの製剤中に両成分を配合した配合剤の形態で投与してもよく、また別々の製剤にして投与する形態をとってもよい。この別々の製剤にして投与する場合には、同時投与および時間差による投与が含まれる。また、時間差による投与は、EDG-5調節剤を先に投与し、他の

薬剤を後に投与してもよいし、他の薬剤を先に投与し、EDG-5調節剤を後に投与してもよい。それぞれの投与方法は同じでも異なってもよい。

【0024】

上記併用剤により、予防および／または治療効果を奏する疾患は特に限定されず、EDG-5調節剤の予防および／または治療効果を補完および／または増強する疾患であればよい。

【0025】

EDG-5アンタゴニストの高血圧に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、カルシウム拮抗薬、アンジオテンシンII拮抗剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、利尿剤、ホスホジエステラーゼ4阻害剤、プロスタグランジン類（以下、PGと略記することがある。）等が挙げられる。

【0026】

EDG-5アンタゴニストの腎疾患に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、ステロイド剤、ホスホジエステラーゼ4阻害剤、非ステロイド系抗炎症薬、トロンボキサンA₂受容体拮抗剤、ロイコトリエン受容体拮抗剤、アンジオテンシンII拮抗剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、利尿剤、PG類等が挙げられる。

【0027】

EDG-5アンタゴニストのくも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患等に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、カルシウム拮抗薬、血栓溶解剤、トロンボキサン合成酵素阻害剤、エンドセリン拮抗薬、抗酸化剤、ラジカルスカベンジャー、PARP阻害剤、アストロサイト機能改善剤、血管拡張剤等が挙げられる。

【0028】

EDG-5アゴニストの偏頭痛に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、非ステロイド系抗炎症薬、エルゴタミン製剤、カルシウム拮抗薬、セロトニン作動薬等が挙げられる。

【0029】

カルシウム拮抗剤としては、ニフェジピン、塩酸ベニジピン、塩酸ジルチアゼム、塩酸ベラパミル、ニソルジピン、ニトレンジピン、塩酸ペプリジル、ベシル酸アムロジピン、塩酸ロメリジン等が挙げられる。

アンジオテンシンⅡ拮抗剤としては、ロサルタン、カンデサルタン、バルサルタン、イルベサルタン、オルメサルタン、テルミサルタン等が挙げられる。

【0030】

アンギオテンシン変換酵素阻害剤としては、アラセプリル、塩酸イミダプリル、塩酸キナプリル、塩酸テモカプリル、塩酸デラプリル、塩酸ベナゼプリル、カプトプリル、トランドラプリル、ペリンドプリルエルブミン、マレイン酸エナラプリル、リシノプリル等が挙げられる。

【0031】

利尿剤としては、例えば、マンニトール、フロセミド、アセタゾラミド、ジクロルフェナミド、メタゾラミド、トリクロルメチアジド、メフルシド、スピロノラクトン、アミノフィリン等が挙げられる。

【0032】

ホスホジエステラーゼ4阻害剤としては、例えば、ロリプラム、シロミラスト、Bay 19-8004、NIK-616、ロフルミラスト (BY-217)、シパムフィリン (BRL-61063)、アチゾラム (CP-80633)、SCH-351591、YM-976、V-11294A、PD-168787、D-4396、IC-485等が挙げられる。

【0033】

プロスタグランジン類 (PG) としては、PG受容体アゴニスト、PG受容体アンタゴニスト等が挙げられる。

PG受容体としては、PGE受容体 (EP1、EP2、EP3、EP4)、PGD受容体 (DP、CRTH2)、PGF受容体 (FP)、PGI受容体 (IP)、TX受容体 (TP) 等が挙げられる。

【0034】

トロンボキサン合成酵素阻害剤としては、例えば、塩酸オザグレール、イミトロ

ダストナトリウム等が挙げられる。

血栓溶解剤としては、アルテプラーゼ、ウロキナーゼ、チソキナーゼ、ナサルプラーゼ、ナテプラーゼ、組織プラスミノゲンアクチベーター、パミテプラーゼ、モンテプラーゼ等が挙げられる。

【0035】

ステロイド剤としては、例えば、内服薬、注射剤としては、酢酸コルチゾン、ヒドロコルチゾン、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、酢酸フルドロコルチゾン、プレドニゾン、酢酸プレドニゾン、コハク酸プレドニゾンナトリウム、ブチル酢酸プレドニゾン、リン酸プレドニゾンナトリウム、酢酸ハロプレドン、メチルプレドニゾン、酢酸メチルプレドニゾン、コハク酸メチルプレドニゾンナトリウム、トリウムシノロン、酢酸トリウムシノロン、トリウムシノロンアセトニド、デキサメサゾン、酢酸デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、パルミチン酸デキサメタゾン、酢酸パラメサゾン、ベタメタゾン等が挙げられる。

【0036】

非ステロイド系抗炎症薬としては、例えば、サザピリン、サリチル酸ナトリウム、アスピリン、アスピリン・ダイアルミネート配合、ジフルニサル、インドメタシン、スプロフェン、ウフェナマート、ジメチルイソプロピルアズレン、ブフェキサマク、フェルピナク、ジクロフェナク、トルメチンナトリウム、クリノリル、フェンブフェン、ナプメトン、プログルメタシン、インドメタシンファルネシル、アセメタシン、マレイン酸プログルメタシン、アンフェナクナトリウム、モフェゾラク、エトドラク、イブプロフェン、イブプロフェンピコノール、ナプロキセン、フルルビプロフェン、フルルビプロフェンアキセチル、ケトプロフェン、フェノプロフェンカルシウム、チアプロフェン、オキサプロジン、プラノプロフェン、ロキソプロフェンナトリウム、アルミノプロフェン、ザルトプロフェン、メフェナム酸、メフェナム酸アルミニウム、トルフェナム酸、フロクタフェニン、ケトフェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、ピロキシカム、テノキシカム、アンピロキシカム、ナパゲルン軟膏、エピリゾール、塩酸チアラミド、塩酸チノリジン、エモルファゾン、スルピリン、ミグレニン、サリドン、セデスG

、アミピローN、ソルボン、ピリン系感冒薬、アセトアミノフェン、フェナセチン、メシル酸ジメトチアジン、シメトリド配合剤、非ピリン系感冒薬等が挙げられる。

【0037】

エルゴタミン製剤としては、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、酒石酸エルゴタミン等が挙げられる。

セロトニン作動薬としては、スマトリプタン、ゾルミトリプタン、ナラトリプタン、リザトリプタン、エレトリプタン、アルモトリプタンおよびフロバトリプタン等が挙げられる。

ラジカルスカベンジャーとしては、ラジカットが挙げられる。

アストロサイト機能改善剤としては、ONO-2506が挙げられる。

【0038】

併用するEDG-5調節剤と他の薬剤の質量比は特に限定されない。

他の薬剤は、任意の2種以上を組み合わせ投与してもよい。

また、EDG-5調節剤の予防および／または治療効果を補完および／または増強する他の薬剤には、上記したメカニズムに基づいて、現在までに見出されているものだけでなく今後見出されるものも含まれる。

【0039】

EDG-5調節剤、またはEDG-5調節剤と他の薬剤の併用剤を上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

【0040】

投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人当たり、一回につき、1 ngから100 mgの範囲で一日一回から数回経口投与されるか、または成人一人当たり、一回につき、0.1 ngから10 mgの範囲で一日一回から数回非経口投与されるか、または一日1時間から24時間の範囲で静脈内に持続投与される。

もちろん前記したように、投与量は種々の条件により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて投与の必要な場合もある。

る。

【 0 0 4 1 】

EDG-5 調節剤、または EDG-5 調節剤と他の薬剤の併用剤を投与する際には、経口投与のための内服用固形剤、内服用液剤および非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤、点眼剤、吸入剤等として用いられる。

経口投与のための内服用固形剤には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセル剤には、ハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。

【 0 0 4 2 】

このような内服用固形剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質はそのままか、または賦形剤（ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、デンプン等）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム等）、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸等）等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等）で被覆していてもよいし、また 2 以上の層で被覆していてもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

【 0 0 4 3 】

経口投与のための内服用液剤は、薬剤的に許容される水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含む。このような液剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質が、一般的に用いられる希釈剤（精製水、エタノールまたはそれらの混液等）に溶解、懸濁または乳化される。さらにこの液剤は、湿潤剤、懸濁化剤、乳化剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、保存剤、緩衝剤等を含有していてもよい。

【 0 0 4 4 】

非経口投与のための外用剤の剤形には、例えば、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、湿布剤、貼付剤、リニメント剤、噴霧剤、吸入剤、スプレー剤、エアゾル剤、

点眼剤、および点鼻剤等が含まれる。これらはひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、公知の方法または通常使用されている処方により調製される。

【0045】

軟膏剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に混和、または溶融させて調製される。軟膏基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸または高級脂肪酸エステル（アジピン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、アジピン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステル、オレイン酸エステル等）、ロウ類（ミツロウ、鯨ロウ、セレスン等）、界面活性剤（ポリオキシエチレンアルキルエーテルリン酸エステル等）、高級アルコール（セタノール、ステアリルアルコール、セトステアリルアルコール等）、シリコン油（ジメチルポリシロキサン等）、炭化水素類（親水ワセリン、白色ワセリン、精製ラノリン、流動パラフィン等）、グリコール類（エチレングリコール、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、マクロゴール等）、植物油（ヒマシ油、オリーブ油、ごま油、テレピン油等）、動物油（ミンク油、卵黄油、スクワラン、スクワレン等）、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保湿剤、保存剤、安定化剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

【0046】

ゲル剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させて調製される。ゲル基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、低級アルコール（エタノール、イソプロピルアルコール等）、ゲル化剤（カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロース等）、中和剤（トリエタノールアミン、ジイソプロパノールアミン等）、界面活性剤（モノステアリン酸ポリエチレングリコール等）、ガム類、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

【 0 0 4 7 】

クリーム剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融または乳化させて調製される。クリーム基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸エステル、低級アルコール、炭化水素類、多価アルコール（プロピレングリコール、1，3－ブチレングリコール等）、高級アルコール（2－ヘキシルデカノール、セタノール等）、乳化剤（ポリオキシエチレンアルキルエーテル類、脂肪酸エステル類等）、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

【 0 0 4 8 】

湿布剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させ、練合物とし支持体上に展延塗布して製造される。湿布基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、増粘剤（ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、デンプン、ゼラチン、メチルセルロース等）、湿潤剤（尿素、グリセリン、プロピレングリコール等）、充填剤（カオリン、酸化亜鉛、タルク、カルシウム、マグネシウム等）、水、溶解補助剤、粘着付与剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

【 0 0 4 9 】

貼付剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させ、支持体上に展延塗布して製造される。貼付剤用基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高分子基剤、油脂、高級脂肪酸、粘着付与剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

【 0 0 5 0 】

リニメント剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば

、ひとつまたはそれ以上の活性物を水、アルコール（エタノール、ポリエチレングリコール等）、高級脂肪酸、グリセリン、セッケン、乳化剤、懸濁化剤等から選ばれるもの単独または2種以上に溶解、懸濁または乳化させて調製される。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

【0051】

噴霧剤、吸入剤、およびスプレー剤は、一般的に用いられる希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような緩衝剤、例えば塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第 2,868,691号および同第3,095,355 号に詳しく記載されている。

【0052】

非経口投与のための注射剤としては、溶液、懸濁液、乳濁液および用時溶剤に溶解または懸濁して用いる固形の注射剤を包含する。注射剤は、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。溶剤として、例えば注射用蒸留水、生理食塩水、植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、エタノールのようなアルコール類等およびそれらの組み合わせが用いられる。さらにこの注射剤は、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸、ポリソルベート80（登録商標）等）、懸濁化剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤等を含んでもよい。これらは最終工程において滅菌するか無菌操作法によって製造される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の注射用蒸留水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

【0053】

非経口投与のための点眼剤には、点眼液、懸濁型点眼液、乳濁型点眼液、用時溶解型点眼液および眼軟膏が含まれる。

これらの点眼剤は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。点眼剤の溶剤としては、例えば、滅菌精製水、生理食塩水、その他の水性溶剤または注射用非水性用剤（例えば、植物油等）等およびそれらの組み合わせが用いられる。点眼

剤は、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、界面活性化剤（ポリソルベート80（商品名）、ステアリン酸ポリオキシシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等）、安定化剤（クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等）、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）等などを必要に応じて適宜選択して含んでいてもよい。これらは最終工程において滅菌するか、無菌操作法によって調製される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の滅菌精製水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

【0054】

非経口投与のための吸入剤としては、エアロゾル剤、吸入用粉末剤または吸入用液剤が含まれ、当該吸入用液剤は用時に水または他の適当な媒体に溶解または懸濁させて使用する形態であってもよい。

これらの吸入剤は公知の方法に準じて製造される。

【0055】

例えば、吸入用液剤の場合には、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、着色剤、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、増粘剤（カリボキシビニルポリマー等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

吸入用粉末剤の場合には、滑沢剤（ステアリン酸およびその塩等）、結合剤（デンプン、デキストリン等）、賦形剤（乳糖、セルロース等）、着色剤、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

【0056】

吸入用液剤を投与する際には、通常噴霧器（アトマイザー、ネブライザー）が使用され、吸入用粉末剤を投与する際には、通常粉末薬剤用吸入投与器が使用される。

【0057】

非経口投与のためその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、常法により処方される直腸内投与のための坐剤および腔内投与のための

ペッサリー等が含まれる。

【0058】

【実施例】

以下、実施例によって本発明を詳述するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0059】

実施例1：細胞内カルシウムイオンの濃度変化をモニターすることによるEDG-5拮抗活性の評価

ヒトEDG-5遺伝子を過剰発現させたチャイニーズハムスターオーバリー（CHO）細胞を、10%FBS（ウシ胎児血清）、ペニシリン／ストレプトマイシンおよびブラスチサイジン（ $5\mu\text{g}/\text{ml}$ ）含有のHam's F12培地（GIBCO BRL 社製）で培養した。培養した細胞をFura2（ $5\mu\text{M}$ ）-AM溶液〔FBS（10%）、HEPES緩衝液（20mM, pH7.4）、およびプロベネシド（2.5mM）含有のHam's F12培地〕中で、37℃、60分間インキュベーションした。HEPES緩衝液（20mM, pH7.4）およびプロベネシドを含むHanks液（2.5mM）で1回洗浄し、同液に浸した。蛍光ドラッグスクリーニングシステムにプレートを設定し、30秒間無刺激で細胞内カルシウムイオン濃度を測定した。被験薬（終濃度：1nM～10 μM 、ジメチルスルホキシド（DMSO）溶液）を添加し、その5分後にS1P（終濃度：100nM）を添加して、S1P添加前後の細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を3秒間隔で測定した（励起波長340nmおよび380nm、蛍光波長500nm）。

【0060】

EDG-5拮抗活性は、被験薬の代わりにDMSOを添加したウェルでのS1P（終濃度：100nM）によるピーク値をコントロール値（A）とし、化合物を処置した細胞でのS1P投与後の上昇値（B）とを比較し、抑制率（%）として以下のように算出した。

【数1】

$$\text{抑制率 (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

【0061】

IC_{50} 値は、抑制率50%を示す本発明化合物の濃度として算出した。

なお、ヒトEDG-1またはEDG-3を過剰発現させた細胞を作製して、EDG-1および3拮抗作用も上記と同様の方法で評価した。

その結果、本発明中の化合物はEDG-5に対して特異的に拮抗活性を示した。例えば、N-(1H-1, 3, 4-トリメチルピラゾロ[3, 4-b]ピリジン-6-イル)アミノ-N'-(3-クロロフェニル)尿素(以下、化合物(1)と略記する。)の IC_{50} 値は、EDG-5に対しては $0.5 \mu M$ であり、EDG-1およびEDG-3に対しては $10 \mu M$ 以上であった。

【0062】

実施例2：イヌ摘出脳底動脈のS1Pによる収縮に対するEDG-5アンタゴニストの阻害活性

雄性ビーグル犬(12ヶ月齢)を安楽死させて摘出した脳底動脈を、Krebs-Henseleit液[塩化ナトリウム(112 mmol/L)、塩化カリウム(5.9 mmol/L)、塩化カルシウム(2.0 mmol/L)、塩化マグネシウム(1.2 mmol/L)、リン酸二水素ナトリウム(1.2 mmol/L)、炭酸水素ナトリウム(25.0 mmol/L)、グルコース(11.5 mmol/L)]に浸した。眼科鉗で長さ3~4mmに切り分け、リング状標本を作製した。作製した標本をKrebs-Henseleit液($37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、混合ガス[95% O_2 +5% CO_2]を通気)を充たしたマグヌス管内(容量: 10 mL)に、リング状組織をフックを用いて懸垂した。次に、1gの静止張力負荷を与え60分程度安定させた後、フォースディスプレイメントトランスデューサー(Force displacement transducer)(FDピックアップTB-611T)からひずみ圧アンプ(AP-641G, AP-601G)を介してレコーダー上に収縮運動を記録した。収縮作用の陽性対照としては、セロトニン($1 \mu M$)を用いた。その後、S1P($10 \mu M$)を加えて収縮作用を測定した。その結果、セロトニンおよびS1Pは脳底動脈を収縮させた。

【0063】

S1P添加20分後、被験薬($10 \mu M$)を添加し、S1Pの収縮作用に対する阻害活性を検討した。その結果、EDG-5アンタゴニスト活性を有する被験

薬は S 1 P による脳底動脈の収縮を阻害した。一方、E D G - 1 および / または 3 アンタゴニスト活性を有する被験薬は阻害活性を示さなかった。

結果を図 1 に示す

【 0 0 6 4 】

なお、E D G - 5 アンタゴニスト活性を有する被験薬としては上記実施例 1 に記載した化合物 (1) を用いた。

また、化合物 (1) 以外の E D G - 5 アンタゴニスト活性を有する化合物によっても、化合物 (1) 同様の収縮阻害効果が認められた。さらには、ウサギ脳底動脈の S 1 P による収縮に対しても化合物 (1) は阻害活性を示した。

以上のことから、S 1 P は E D G - 5 を介して脳底動脈を収縮させることがわかった。

【 0 0 6 5 】

実施例 3 : イヌ摘出腎動脈の S 1 P による収縮に対する E D G - 5 アンタゴニストの阻害活性

雄性ビーグル犬 (1 2 ヶ月齢) を安楽死させて摘出した腎動脈を、Krebs-Henseleit 液 [塩化ナトリウム (1 1 2 m m o l / L) 、塩化カリウム (5 . 9 m m o l / L) 、塩化カルシウム (2 . 0 m m o l / L) 、塩化マグネシウム (1 . 2 m m o l / L) 、リン酸二水素ナトリウム (1 . 2 m m o l / L) 、炭酸水素ナトリウム (2 5 . 0 m m o l / L) 、グルコース (1 1 . 5 m m o l / L)] に浸した。眼科鉗で長さ 3 ~ 4 m m に切り分け、リング状標本を作製した。作製した標本を Krebs-Henseleit 液 (3 7 ± 1 ° C , 混合ガス [9 5 % O₂ + 5 % C O₂] を通気) を充たしたマグヌス管内 (容量 : 1 0 m L) に、リング状組織をフックを用いて懸垂した。次に、1 g の静止張力負荷を与え 6 0 分程度安定させた後、フォースディスプレイメントトランスデューサー (Force displacement transducer) (FDピックアップ TB-611T) からひずみ圧アンプ (AP-641G, AP-601G) を介してレコーダー上に収縮運動を記録した。収縮作用の陽性対照としては、セロトニン (1 μ M) を用いた。その後、S 1 P (1 μ M および 1 0 μ M) を加えて収縮作用を測定した。その結果、セロトニンおよび S 1 P (1 μ M 、 1 0 μ M) は腎動脈を収縮させた。

【0066】

S1P ($1\ \mu\text{M}$) を添加して40分後、被験薬 ($10\ \mu\text{M}$) を添加し、S1P の収縮作用に対する阻害活性を検討した。その結果、EDG-5 アンタゴニスト 活性を有する被験薬はS1Pによる腎動脈の収縮を阻害した。一方、EDG-1 および／または3 アンタゴニスト活性を有する被験薬は阻害活性を示さなかった。結果を図2に示す

【0067】

なお、EDG-5 アンタゴニスト活性を有する被験薬としては上記実施例1に記載した化合物(1)を用いた。

また、化合物(1)以外のEDG-5 アンタゴニスト活性を有する化合物によっても、化合物(1)と同様の収縮阻害効果が認められた。さらには、ウサギ腎動脈のS1Pによる収縮に対しても化合物(1)は阻害活性を示した。

以上のことから、S1PはEDG-5を介して腎動脈を収縮させることがわかった。

【0068】

実施例4：ラット摘出胸部大動脈のS1Pによる収縮に対するEDG-5 アンタゴニストの阻害活性

雄性SDラット(7~13週齢)を安楽死させて摘出した胸部大動脈を、Krebs-Henseleit 液[塩化ナトリウム(112 mmol/L)、塩化カリウム(5.9 mmol/L)、塩化カルシウム(2.0 mmol/L)、塩化マグネシウム(1.2 mmol/L)、リン酸二水素ナトリウム(1.2 mmol/L)、炭酸水素ナトリウム(25.0 mmol/L)、グルコース(11.5 mmol/L)]に浸した。眼科鉗で長さ3~4mmに切り分け、渦巻き状標本を作製した。作製した標本をKrebs-Henseleit 液($37\pm 1^\circ\text{C}$ 、混合ガス[$95\%\text{O}_2 + 5\%\text{CO}_2$]を通気)を充たしたマグヌス管内(容量: 10 mL)に、セルフインを用いて懸垂した。次に、 0.5 g の静止張力負荷を与え60分程度安定させた後、フォースディスプレイメントトランスデューサー (Force displacement transducer) (FDピックアップ TB-611T) からひずみ圧アンプ (AP-641G, AP-601G) を介してレコーダー上に収縮運動を記録した。収縮作用の陽性対照としては

、交感神経興奮薬であるフェニレフリン ($10 \mu\text{M}$) を用いた。その後、S 1 P ($10 \mu\text{M}$) を加えて収縮作用を測定した。その結果、フェニレフリンおよび S 1 P はラット胸部大動脈を収縮させた。

【0069】

S 1 P を添加して1時間後、被験薬 ($10 \mu\text{M}$) を添加し、S 1 P の収縮作用に対する阻害活性を検討した。その結果、EDG-5 アンタゴニスト活性を有する被験薬はフェニレフリンによる胸部大動脈の収縮は阻害しなかったが、S 1 P による胸部大動脈の収縮を特異的に阻害した。一方、EDG-1 および/または 3 アンタゴニスト活性を有する被験薬は、フェニレフリンおよび S 1 P による収縮を阻害しなかった。

結果を図3に示す

【0070】

なお、EDG-5 アンタゴニスト活性を有する被験薬としては上記実施例1に記載した化合物(1)を用いた。

また、化合物(1)以外のEDG-5 アンタゴニスト活性を有する化合物によっても、化合物(1)と同様の収縮阻害効果が認められた。さらには、ウサギおよびイヌの大動脈のS 1 P による収縮に対しても化合物(1)は阻害活性を示した。

以上のことから、S 1 P はEDG-5 を介して胸部大動脈を収縮させていることがわかった。

【0071】

実施例5：S 1 P によるラット血圧上昇に対するEDG-5 アンタゴニストの活性

雄性SDラット(8~10週齢)をペントバルビタールナトリウム ($50 \text{ mg} / \text{mL} / \text{kg}$) で麻酔し、頸部正中切開後、気管筋層部の剥離により気管を露出し、ポリエチレン製カニューレを気管に挿入した。次に、総頸動脈および総頸静脈に、ポリエチレン製カテーテルを挿入した。総頸動脈に挿入したカテーテルは圧トランスデューサーに接続し、ひずみ圧力用アンプを介してレコーダーに血圧を記録した。上記の手術終了後、脊髄破壊する場合は、ステンレス棒を脊髄腔内

に挿入して脊髄を破壊した。脊髄破壊後、直ちに気管カニユーレを小動物用人工呼吸装置に接続し、1回換気量6 mL/kg、速度60回/分の条件下で人工換気した。その後、S1P (10 mg/kg/hr) を投与し、血圧が上昇したことを確認した。次に被験薬またはビヒクル (vehicle) を腹腔内投与し、S1Pの血圧上昇作用に対する阻害活性を観察した。

【0072】

製剤例1：

以下の各成分を常法により混合した後打錠して、一錠中に50 mgの活性成分を含有する錠剤100錠を得た。

| | |
|--|-------------|
| ・N-(1H-1, 3, 4-トリメチルピラゾロ[3, 4-b]ピリジン-6-イル) アミノ-N'-(3-クロロフェニル) 尿素 | 5.0 g |
| ・カルボキシメチルセルロースカルシウム (崩壊剤) | 0.2 g |
| ・ステアリン酸マグネシウム (潤滑剤) | 0.1 g |
| ・微結晶セルロース | 4.7 g |

【0073】

製剤例2：

以下の各成分を常法により混合した後、溶液を常法により滅菌し、5 mlずつアンプルに充填し、常法により凍結乾燥し、1アンプル中20 mgの活性成分を含有するアンプル100本を得た。

| | |
|--|-------------|
| ・N-(1H-1, 3, 4-トリメチルピラゾロ[3, 4-b]ピリジン-6-イル) アミノ-N'-(3-クロロフェニル) 尿素 | 2.0 g |
| ・マンニトール | 20 g |
| ・蒸留水 | ... 1000 ml |

【図面の簡単な説明】

【図1】 S1Pによるイヌ脳底動脈の収縮作用に対する、10 μ Mの化合物(1)の抑制効果を表わす。

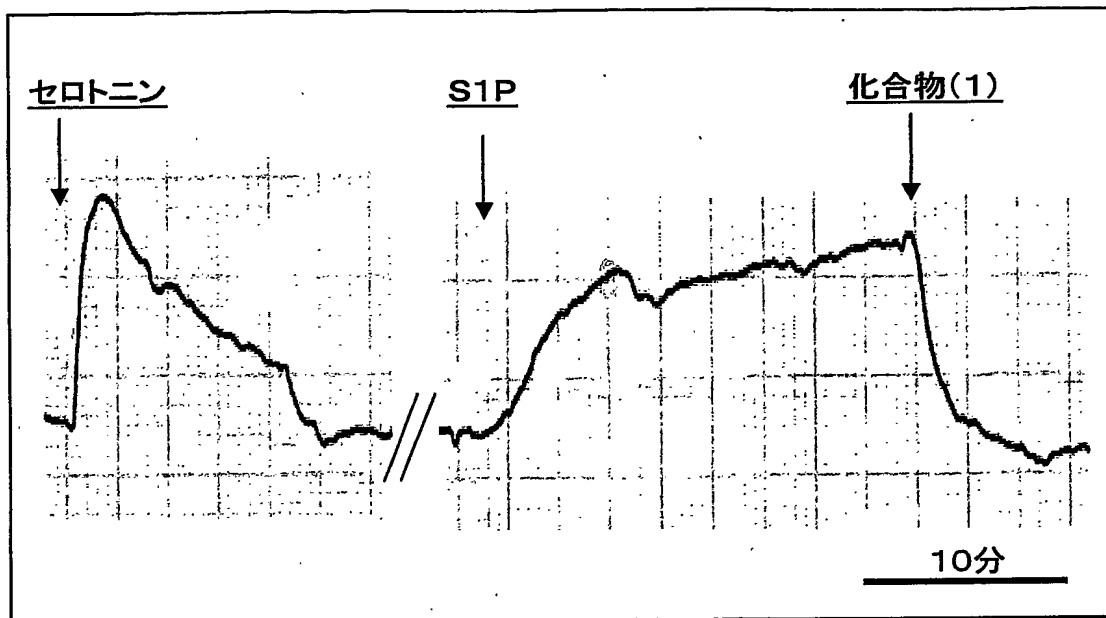
【図2】 S1Pによるイヌ腎動脈の収縮作用に対する、10 μ Mの化合物(1)の抑制効果を表わす。

【図3】 10 μ Mの化合物(1)がS1Pによるラット胸部大動脈の収縮作

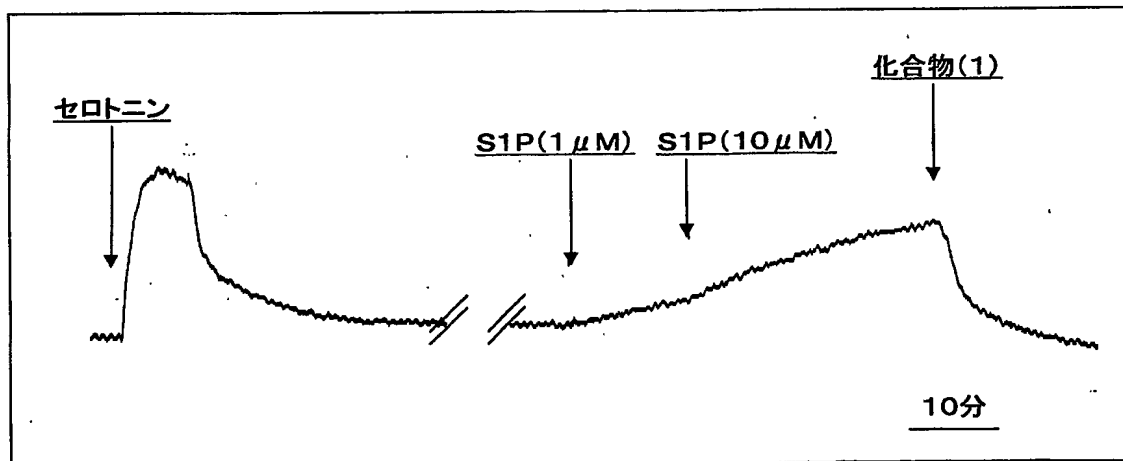
用を抑制する効果を有し、フェニレフリンによる胸部大動脈の収縮作用抑制効果を示さないことを表わす。

【書類名】 図面

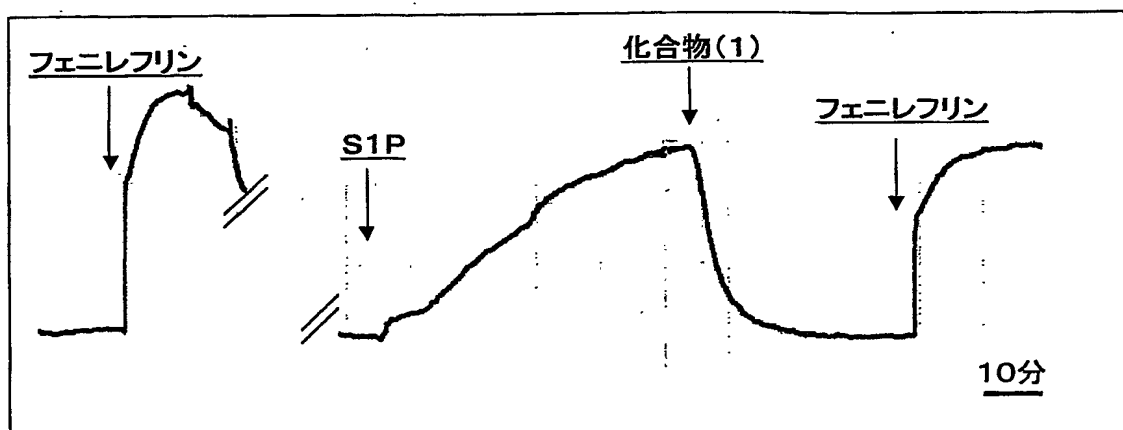
【図 1】



【図 2】



【図3】



【書類名】 要約書

【要約】

【構成】 EDG-5 調節剤からなる血管の異常な収縮または拡張による疾患治療および／または予防剤。

【効果】 EDG-5 調節剤は S1P 受容体サブタイプの EDG-5 に特異的に結合し、アンタゴニストまたはアゴニスト作用を示すため、EDG-5 を介して S1P により引き起こされる血管の異常な収縮による疾患、例えばくも膜下出血または脳梗塞後の脳血管攣縮性疾患、心血管攣縮性疾患、高血圧、腎疾患および血管の異常な拡張による疾患、例えば慢性頭痛の治療および／または予防に有用である。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000185983]

1. 変更年月日

1990年 9月 2日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

氏 名

小野薬品工業株式会社